



病毒中和试验

Virus Neutralization Test

2012.7.17

张文昌

- 背景
- 原理
- 方法
- 应用
- 各种方法利弊分析
- 发展趋势
- 质量控制



(一) 背景介绍

- 1.当病原微生物侵入机体时会诱导机体体液免疫产生相应的抗体。
- 2.病原微生物入侵细胞时需要依赖病原体自身表达的特定分子与细胞上的受体结合，才能感染细胞，并进一步扩增。
- 3.病毒完整的复制周期

[艾滋病病毒复制.flv](#)

4.病毒的中和抗体（neutralization antibody）

指：针对病毒某些表面抗原的抗体，此类抗体能与细胞外游离的病毒结合从而消除病毒的感染能力。

5.中和抗体的作用机制：

①直接封闭病毒表面抗原，如与病毒表面吸附蛋白（VAP）结合，从而阻断病毒的吸附

②改变病毒表面结构

③病毒与中和抗体形成的免疫复合物，易被巨噬细胞吞噬清除

④有包膜的病毒表面抗原与中和抗体结合后，激活补体，可导致病毒的裂解

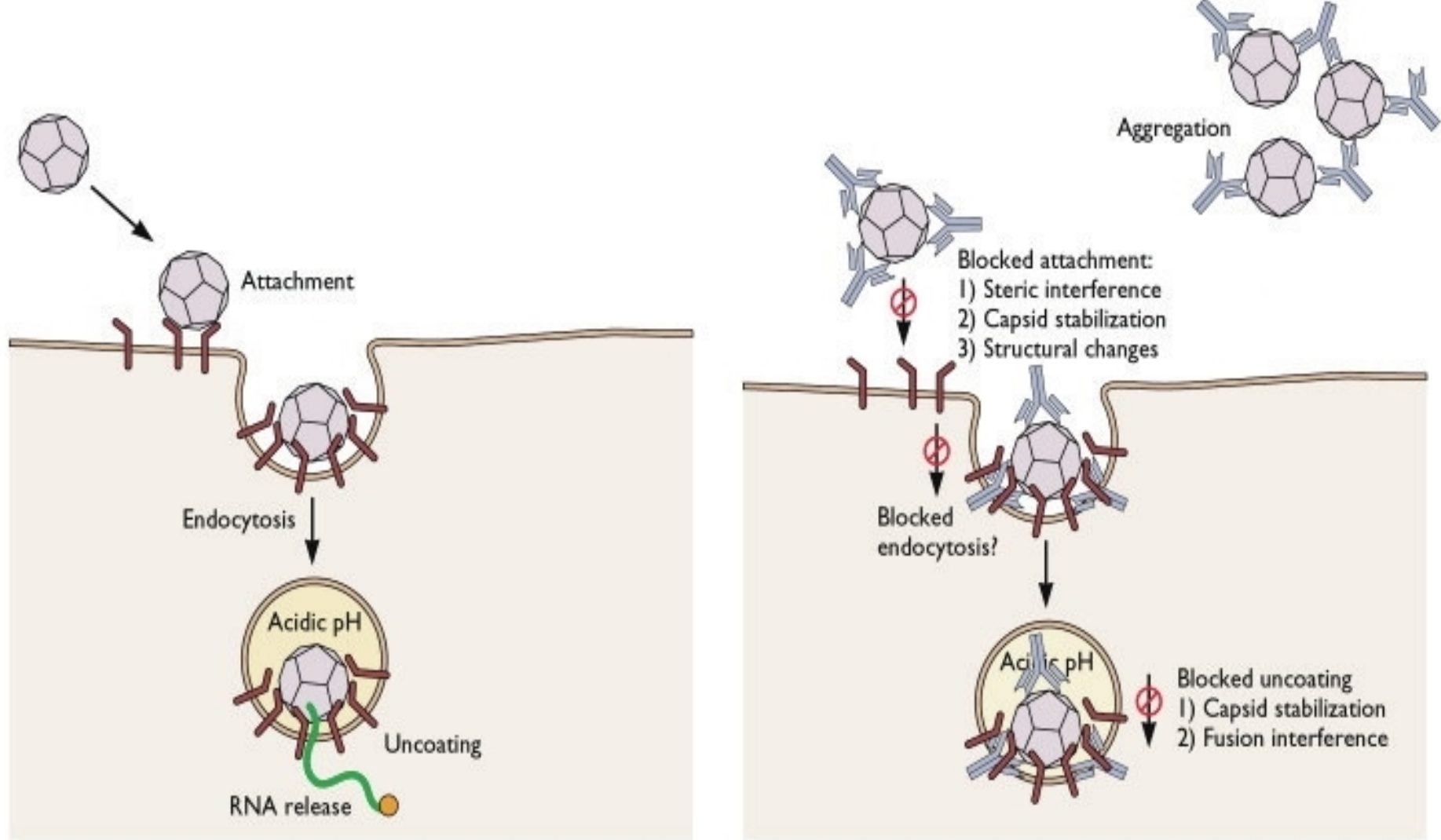
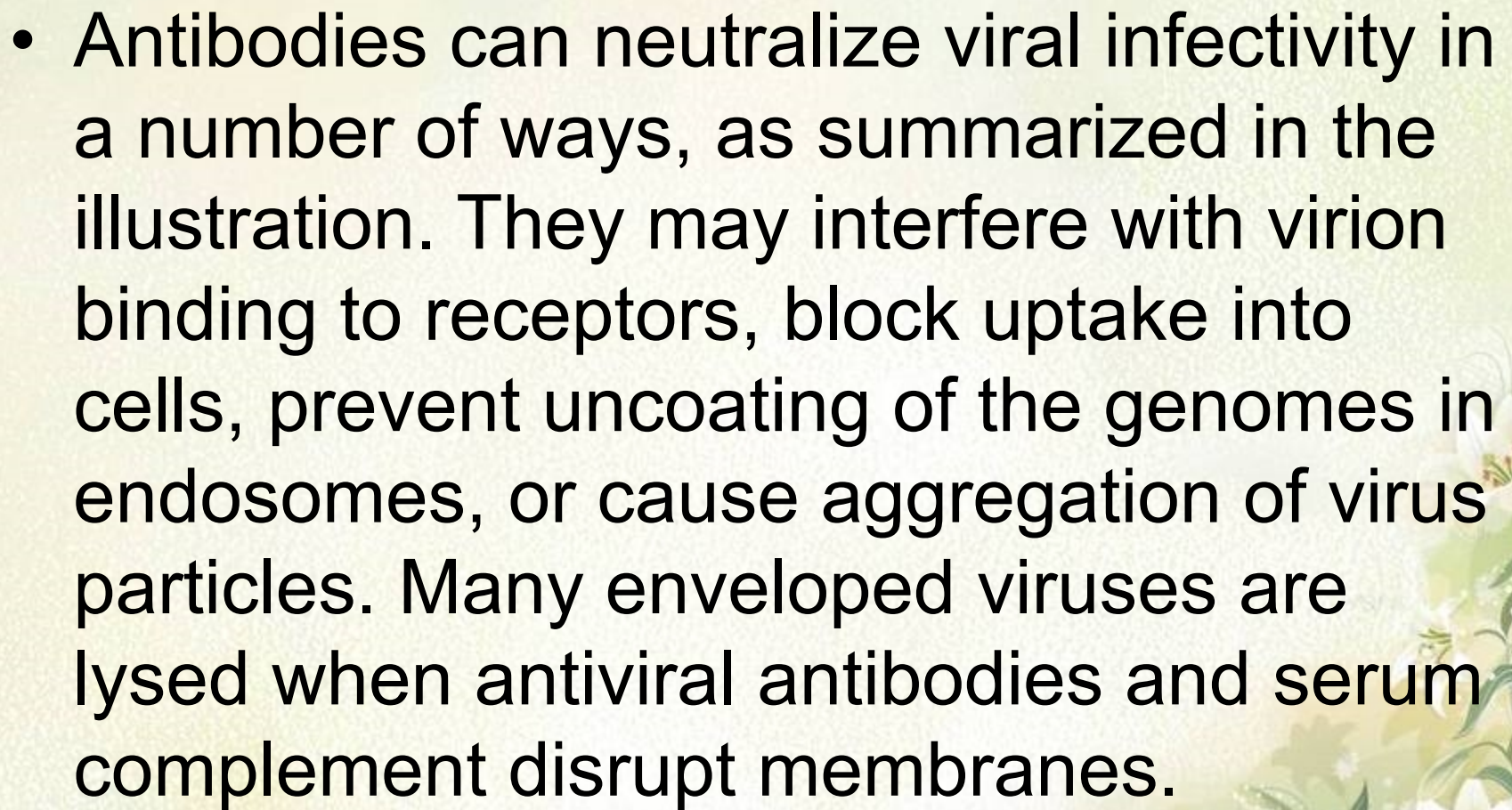


图1.中和抗体作用机制

- 
- Antibodies can neutralize viral infectivity in a number of ways, as summarized in the illustration. They may interfere with virion binding to receptors, block uptake into cells, prevent uncoating of the genomes in endosomes, or cause aggregation of virus particles. Many enveloped viruses are lysed when antiviral antibodies and serum complement disrupt membranes.

6.病毒中和试验: Neutralization of a virus is defined as the loss of infectivity through reaction of the virus with specific antibody.

- 以测定病毒感染力为基础，以病毒受免疫血清中和后残存的感染力为依据，来判定免疫血清中和病毒的能力。
- 常用于检测患者血清中抗体消长情况，抗原免疫原性评价，也可用来鉴定未知病毒或对病毒进行半定量等。

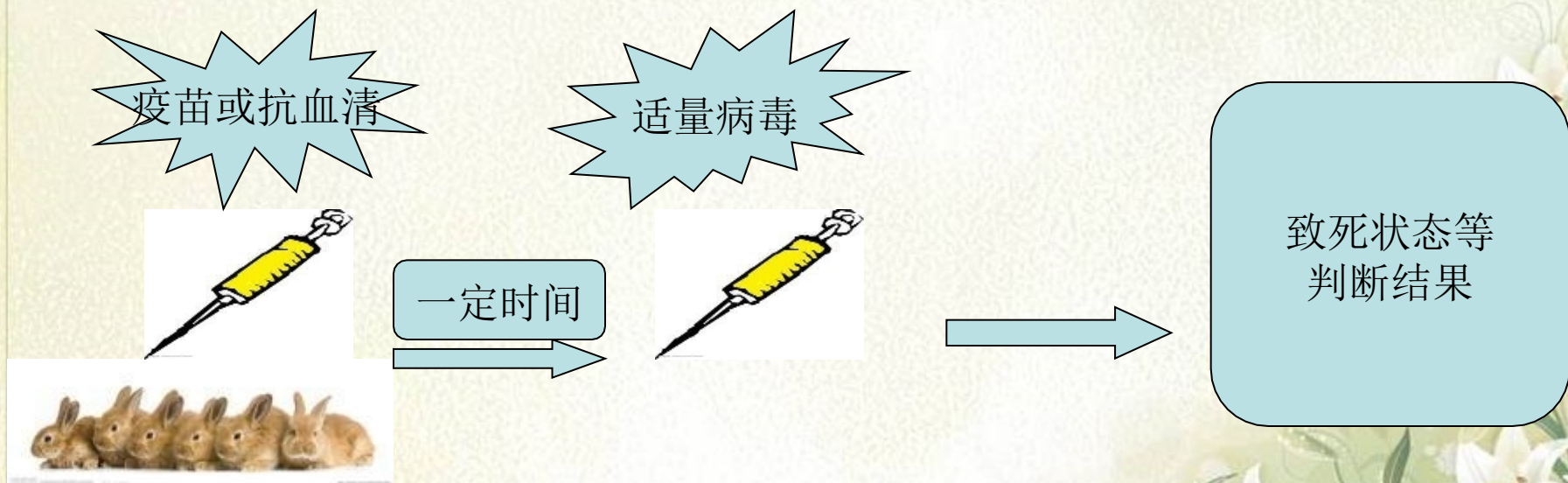
(二) 原理

- 特异的抗病毒免疫血清（中和抗体）和病毒作用后，使病毒失去感染的能力，一种病毒只能被相应的免疫血清所中和。
- 中和一定量的病毒的攻击力必须有一定效价的中和抗体。

(三) 方法

1. 中和实验可分为体内试验和体外试验

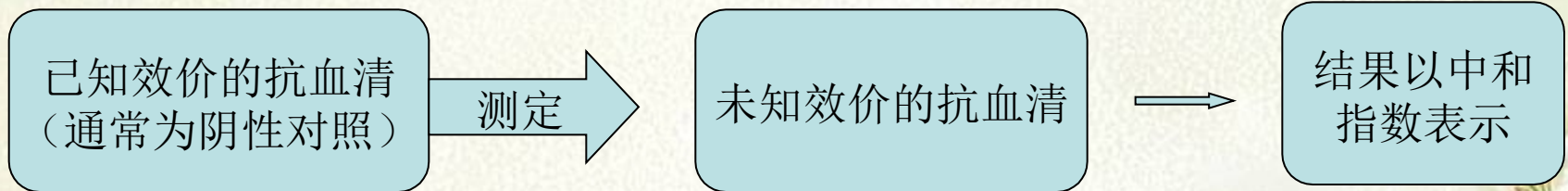
① 体内中和试验也称保护试验，试验时先对实验动物接种疫苗或抗血清，间隔一定时间后，再用一定量病毒攻击，最后根据动物是否得到保护来判定结果。常用于疫苗免疫原性的评价和抗血清的质量评价。



②体外中和试验是将抗血清与病毒混合，在适当条件下作用一定时间后，接种于敏感细胞、鸡胚以检测混合液中病毒的感染力。根据保护效果的差异，判断该病毒是否已被中和，并可计算中和指数，即中和抗体的效价。

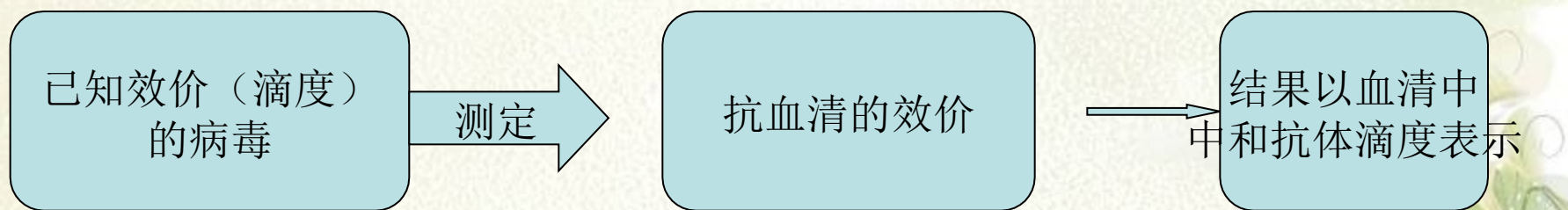
2. 根据稀释成分不同可分为两种方法。一为固定病毒用量与等量一系列倍比稀释的血清进行中和试验，以血清中和抗体滴度表示。二为固定血清用量与等量一系列对数稀释的病毒进行中和试验。结果以中和指数表示。

①固定血清稀释病毒法：



$$\text{中和指数} = \frac{\text{试验组LD50 (EID50、TCID50)}}{\text{对照组LD50 (EID50、TCID50)}}$$

②固定病毒稀释血清法：

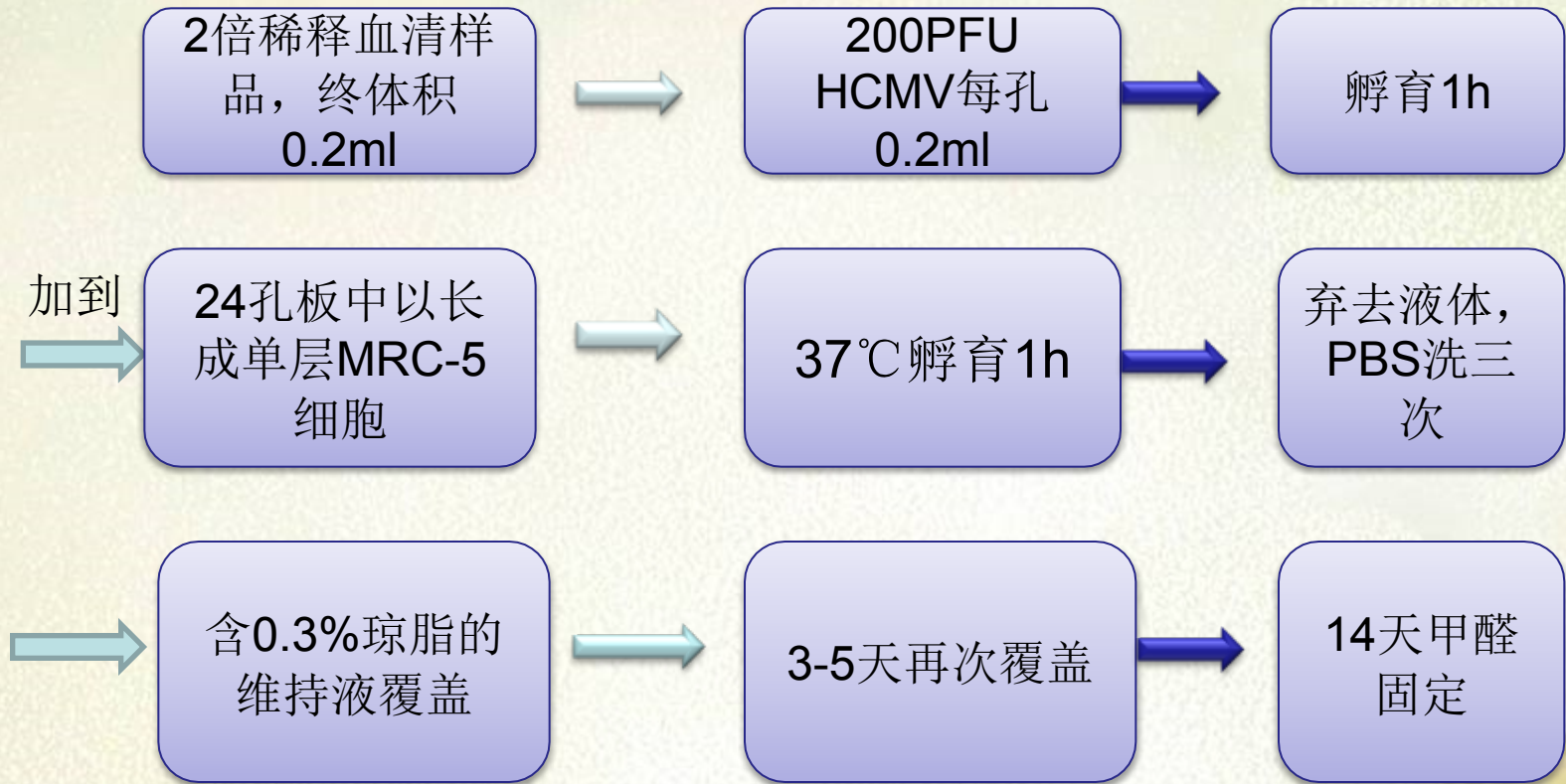


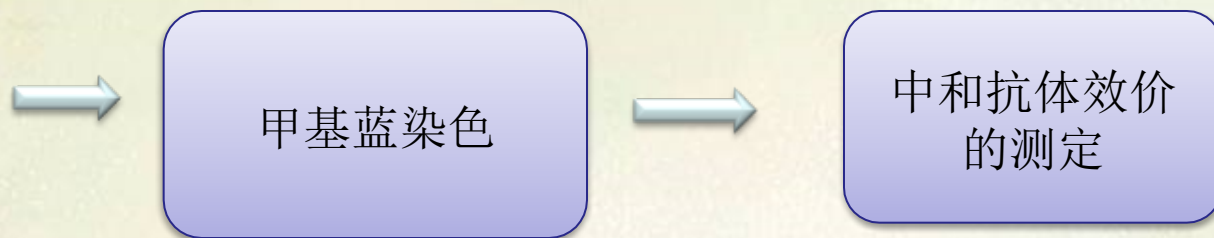
(四) 应用

1. 蚀斑减少中和实验 (Plaque Reduction Neutralization Test PRNT)

蚀斑减少中和试验是检测血清中和抗体的一种敏感性较高的方法，试验以使蚀斑数减少 50% 的血清稀释度作为其中的效价。试验使用定量的病毒 (100PFU) 与不同稀释度的等量血清混合后感作，接种预先准备好的单层细胞，再覆盖上营养琼脂置 37℃ 二氧化碳培养箱培养，数天后分别统计蚀斑数，用 Karber 法计算该血清的蚀斑中和效价。

以HCMV中和抗体效价测定为例





同时设病毒对照和细胞对照，病毒对照组只加病毒不加血清，细胞对照组用维持液代替血清和病毒。

病毒对照组细胞全部病变（100%），细胞对照组不出现噬斑。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/955122332141011203>